

Kit Fetal Cell Count™

Diagnosi di trasfusione feto-materna tramite citometria a flusso

REF¹ IQP-363 ▽ 25 test

 foglietto illustrativo

IVD **CE** **Dispositivo medico-diagnostico in vitro**

Uso previsto

Il kit Fetal Cell Count™ è stato concepito per la discriminazione e il rilevamento quantitativo di emazie fetali umane nel sangue materno. Il kit Fetal Cell Count™ è basato su un accurato e sensibile metodo citometrico a flusso che offre un duplice rilevamento fluorescente di due antigeni intracellulari, l'emoglobina F (HbF) e l'anidrasi carbonica (CA). Entrambi, HbF e CA, sono rilevati nelle emazie del sangue ottenute da sangue intero periferico umano anticoagulato con EDTA o eparinizzato. La completa colorazione a due colori e l'analisi di un massimo di 5 campioni può essere conclusa entro 2 ore dal prelievo sanguigno.

Principio del test

Il metodo del Fetal Cell Count™ si basa su una combinazione di due anticorpi. Uno è diretto contro l'emoglobina fetale (HbF) presente nei Globuli Rossi fetali ed in percentuale minima nei Globuli Rossi adulti (cellule F). Il secondo anticorpo è diretto contro l'anidrasi carbonica (CA), un enzima presente solo nei Globuli Rossi adulti e in cellule fetali in stadio molto avanzato. Il metodo di citometria a flusso a due colori consente il rilevamento contemporaneo di questi due antigeni intracellulari, mentre l'uso della formaldeide come fissativo e del dodecilsolfato di sodio (SDS) per la permeabilizzazione di Globuli Rossi fissati risulta in una bassa colorazione dello sfondo, una perdita di HbF trascurabile e un'agglutinazione minima delle cellule.

Con ogni campione del paziente insieme al test occorre includere un campione di sangue adulto (maschile) con l'aggiunta del 5% di sangue del funicolo ombelicale come controllo positivo e, come controllo negativo, un campione di sangue adulto (maschile) normale senza l'aggiunta di sangue cordonale.

Contenuto del kit

| | | |
|------------------|---|---------|
| Reagente A | Soluzione fissante (A) - Contenente < 0,1% sodio azide | 2,5 ml |
| Reagente B | Soluzione fissante (B) - Formaldeide tamponata    PERICOLO | 2,5 ml |
| Reagente C | Soluzione permeabilizzante (C) - Contenente dodecilsolfato di sodio (SDS) | 2,5 ml |
| Reagente D (10x) | Soluzione di lavaggio (10xD) concentrata 10 volte - PBS contenente eparina | 1x50 ml |
| Reagente E | Anticorpo monoclonale all'anidrasi carbonica umana coniugato con FITC, contenente < 0,1% sodio azide | 1,3 ml |
| Reagente F | Anticorpo monoclonale all'emoglobina fetale umana coniugato con R-PE, contenente < 0,1% sodio azide. | 1,3 ml |

Ciascun kit contiene i reagenti sufficienti per eseguire 25 esami.

Materiale di laboratorio necessario ma non incluso

Centrifuga da laboratorio, provetta da laboratorio sterile da 5 ml, provette da microcentrifuga sterili a fondo conico; tampone fosfato salino (PBS), pH 7,4; acqua demineralizzata; provette con anticoagulante per il prelievo di sangue; micropipette regolabili e punte; vortex; emocitometro o contacellule automatico; cronometro/timer.

Conservazione

Al momento della consegna, conservare i reagenti a 2-8 °C. Evitare l'esposizione diretta alla luce solare. I reagenti conservati conformemente alle istruzioni rimangono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Per test ripetuti, conservare i reagenti immediatamente dopo l'uso a 2-8 °C.

Avvertimenti e precauzioni

I reagenti contengono sodio azide che può reagire con le tubature di piombo o rame formando azidi metalliche esplosive. Al momento dello smaltimento, sciacquare con acqua abbondante per prevenire la formazione di azidi. Tutti i reagenti saranno maneggiati nel rispetto delle corrette pratiche di laboratorio, adottando le adeguate precauzioni. Maneggiare inoltre tutti i campioni di paziente con l'adeguata cura. Non aspirare alla pipetta con la bocca ed indossare guanti durante la procedura. Il Reagente B contiene formaldeide, un allergenico altamente tossico e reagente potenzialmente cancerogeno da trattare secondo le corrette procedure di laboratorio, adottando adeguate precauzioni. Evitare il contatto con pelle o occhi. Il test sarà eseguito da un operatore di laboratorio autorizzato e competente. Rivolgersi al produttore se il kit originale è danneggiato.

Raccolta e preparazione del campione

Preparazione dei reagenti

- Prima di procedere con il test, diluire la soluzione di lavaggio concentrata 10 volte (reagente D 10x). Per ciascun campione sono necessari circa 16 ml di reagente D 1x. Aggiungere 18 ml di acqua demineralizzata filtrata a 0,2 µm a 2 ml di soluzione di lavaggio con reagente D 10x. Il volume totale sarà 20 ml di soluzione di lavaggio con reagente D 1x (volume massimo). Ad esempio, per il test di un campione del paziente, di un controllo negativo e di uno positivo viene utilizzato un totale di 60 ml di reagente D 1x.
- Tutti i reagenti devono essere a temperatura ambiente prima dell'uso. Soprattutto il reagente C deve essere a temperatura ambiente (è necessario che tutti i precipitati siano dissolti prima dell'uso).

Raccolta e processazione di un campione del paziente

- Raccogliere (almeno) 1 ml di sangue venoso in una provetta contenente EDTA o eparina tramite prelievo venoso asettico. I campioni di sangue devono essere conservati a 2-8 °C o a temperatura ambiente (20-25 °C) fino alla processazione. Dopo 12 ore il campione dovrà essere conservato a 2-8 °C e testato entro 72 ore.
- Il campione del paziente conservato (12-72 ore) deve essere lavato tre volte con reagente D 1x (3 x 2 ml a 300 g per 3 minuti, frenata lenta) prima di iniziare i test. Se possibile, usare l'avvio e l'arresto lento della centrifuga.

Processazione di sangue del cordone ombelicale e di sangue adulto da usare per esperimenti di spiking

- Anche il sangue del cordone ombelicale e il sangue adulto da usare per esperimenti di spiking possono essere conservati fino a 72 ore.
- Il sangue del cordone ombelicale e il sangue adulto devono sempre essere lavati tre volte con reagente D 1x (3 x 2 ml a 300 g per 3 minuti, frenata lenta) prima dello spiking e dell'inizio della procedura di colorazione. Se possibile, usare l'avvio e l'arresto lento della centrifuga.

Campioni di controllo

Analizzare sempre un campione di controllo positivo e negativo con ciascun campione del paziente. Si consiglia come campione di controllo positivo una miscela di sangue del funicolo ombelicale e sangue adulto (maschile). Qualora non fosse disponibile sangue del funicolo ombelicale è possibile utilizzare FETALtrol (FH101). Si consiglia come campione di controllo negativo sangue adulto (maschile) senza aggiuntata.

Utilizzo del controllo positivo per l'impostazione del citometro

- Miscelare circa 5% di sangue del cordone ombelicale in sangue adulto normale (v/v). Miscelare solo sangue del cordone ombelicale e sangue adulto lavati.
- Quando la miscela non viene usata solo per l'impostazione e il controllo ma anche per una quantificazione accurata delle cellule ottenute tramite spiking, gli eritrociti nei campioni di sangue del cordone ombelicale e di sangue adulto devono essere contati su un analizzatore ematologico. Da questi numeri è possibile calcolare lo spike accuratamente.

Controllo negativo (senza cellule fetali)

- Per un controllo negativo è consigliabile usare il sangue di un uomo adulto. Nella procedura trattare questo materiale come campione del paziente.

Procedura del test con il kit Fetal Cell Count™

Fissazione e permeabilizzazione

Campione di controllo (spiked) e campione del paziente

1. Etichettare una provetta per centrifuga da 5 ml a fondo conico separata per ciascun campione di paziente e per i controlli esterni positivo e negativo.
2. Aggiungere 100 µl di Reagente A in ogni provetta.
3. Aggiungere 10 µl di sangue intero con anticoagulante EDTA, mescolare e agitare su vortex. *Se come campione di controllo viene usato FetalTrol, aggiungerne 5 µl.*
4. Aggiungere 100 µl di Reagente B e agitare su vortex.
5. Incubare la sospensione di cellule mescolate a temperatura ambiente esattamente per 30 minuti. Mescolare la sospensione delicatamente ogni 10 minuti.
6. Aggiungere 2 ml di reagente D 1x e miscelare più volte per inversione le provette con le cellule.
7. Centrifugare la sospensione di cellule a 300 g per 3 minuti.
8. Rimuovere il surnatante.
9. Aggiungere 100 µl di reagente D 1x.
10. Sospendere nuovamente il pellet di cellule e agitare su vortex delicatamente.
11. Aggiungere 100 µl di reagente C e agitare su vortex; il tempo esatto di incubazione di 3 minuti ha inizio con la prima provetta. Il reagente C deve essere a temperatura ambiente (è necessario che tutti i precipitati siano dissolti prima dell'uso).
12. Dopo esattamente 3 minuti, aggiungere 2 ml di reagente D 1x e miscelare più volte per inversione le provette con le cellule.
13. Centrifugare la sospensione di cellule a 300 g per 3 minuti.
14. Rimuovere il surnatante.
15. Aggiungere 2 ml di reagente D 1x e sospendere nuovamente il pellet di cellule agitando le provette più volte per inversione.
16. Centrifugare la sospensione di cellule a 300 g per 3 minuti.
17. Rimuovere il surnatante.

18. Sospendere nuovamente il pellet di cellule in 1 ml di reagente D 1x e risospendere le cellule agitandole su vortex delicatamente.

Campioni di controllo per la colorazione immunofluorescente

19. Etichettare quattro provette a fondo conico da usare con il citometro a flusso con S1, S2, S3 e S4.
20. Aggiungere i diversi componenti alle provette in base alla tabella 1 e miscelare.
21. Incubare a temperatura ambiente per 15 minuti al buio (evitare la luce diretta).

| Provetta | Campione con l'aggiunta del 5% | Reagente E | Reagente F |
|----------|--------------------------------|------------|------------|
| S1 | 50 µl | --- | --- |
| S2 | 50 µl | 50 µl | --- |
| S3 | 50 µl | --- | 50 µl |
| S4 | 50 µl | 50 µl | 50 µl |

Tabella 1. Componenti da mettere insieme per la regolazione delle impostazioni del citometro a flusso.

22. Aggiungere 2 ml di reagente D 1x e centrifugare la sospensione di cellule a 300 g per 3 minuti.
23. Rimuovere il surnatante.
24. Sospendere nuovamente il pellet di cellule in 500 µl di reagente D 1x.
25. Le cellule sono ora pronte per l'acquisizione dei dati tramite citometria a flusso. Le cellule devono essere esaminate entro 30 minuti.

Campione del paziente per la colorazione immunofluorescente

26. Mettere insieme in una nuova provetta a fondo conico e mescolare bene:
 - a) 50 µl di Reagente E – CA FITC antiumano
 - b) 50 µl di Reagente F – HbF R-PE antiumano
 - c) 50 µl di sospensione di eritrociti (la sospensione di cellule ottenuta al punto 18)
27. Incubare a temperatura ambiente per 15 minuti al buio (evitare la luce diretta).
28. Aggiungere 2 ml di reagente D 1x e centrifugare la sospensione di cellule a 300 g per 3 minuti.
29. Rimuovere il surnatante.
30. Sospendere nuovamente il pellet di cellule in 500 µl di reagente D 1x.
31. Le cellule sono ora pronte per l'acquisizione dei dati tramite citometria a flusso. Le cellule devono essere esaminate entro 30 minuti.

Acquisizione dei dati

- Devono essere raccolti dati in modalità elenco di almeno 100.000 eventi per i parametri FSC, SSC e segnali di fluorescenza per entrambi gli anticorpi coniugati con fluorocromi, con la regione chiusa agli eritrociti.
- Meno di 100.000 eventi influiranno sulla precisione dell'analisi.
- Per impedire la coincidenza del passaggio di cellule fetali e cellule materne attraverso il laser, è consigliabile analizzare i campioni a una velocità medio-bassa.

Requisiti della strumentazione

- Accertarsi che il citometro a flusso sia calibrato correttamente secondo le istruzioni del produttore.
- Si consiglia di eseguire regolarmente la calibrazione e la manutenzione dello strumento.
- Il citometro a flusso deve essere utilizzato da un tecnico esperto. La valutazione dei risultati deve essere eseguita da una persona esperta nell'interpretazione dei dati di citometria a flusso.

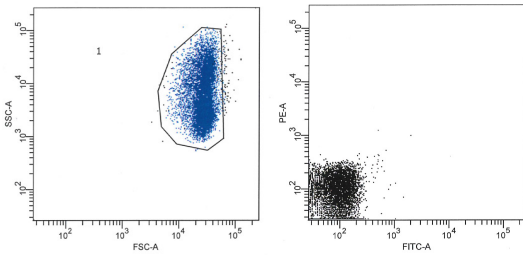
Impostazioni della strumentazione

Questa procedura descrive l'impostazione del citometro a flusso prima dell'acquisizione e dell'analisi dei dati con il kit *Fetal Cell Count™*.

Durante l'analisi è più facile interpretare i dati quando il numero di eventi in ogni dot-plot è limitato a 10.000 eventi.

Analisi

1. Selezionare tutti gli eritrociti nelle **cellule del controllo negativo (S1; controllo non colorato)** usando una regione ed escludere detriti e rumore di fondo impostando la soglia FSC appropriata (vedere il citogramma 1). Selezionare l'amplificazione logaritmica per gli incrementi di FSC e SSC. Attivare la regione per tutte le successive fasi di valutazione.

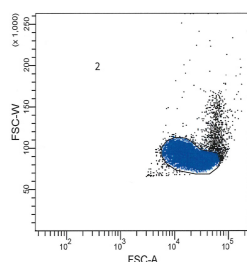


Citogramma 1

Citogramma 2

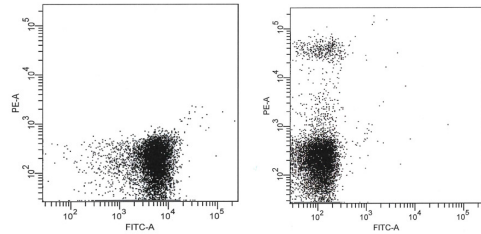
2. Lo stesso campione (S1; controllo non colorato) deve essere usato anche per regolare il voltaggio dei fotomoltiplicatori (PMT) FL1 e FL2. I segnali di base FL1/FL2 saranno posizionati nell'angolo inferiore sinistro di un dot-plot FL1 rispetto a FL2 (vedere il citogramma 2).
3. I duplicati possono essere esclusi rendendo una regione positiva nei singoli eventi, escludendo i duplicati nel dot-plot dell'area FSC rispetto alla larghezza FSC (vedere il citogramma 3).

Usare la combinazione di regione 1 (eventi) e regione 2 (singoli eventi) in tutte le altre fasi e per tutti i campioni della valutazione.



Citogramma 3

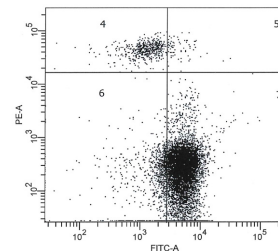
4. Per regolare la compensazione di FITC da FL2, deve essere analizzato il **campione colorato con anti-andrasi carbonica FITC (S2)**. I segnali positivi FL1 (*globuli rossi adulti*) verranno rappresentati nel quadrante inferiore destro del dot-plot FL1 rispetto a FL2 (vedere il citogramma 4).
5. Le impostazioni di compensazione della fluorescenza tra i segnali di fluorescenza FITC e R-PE devono essere ottimizzate per separare le **cellule fetali dalle cellule F materne**. Analizzare il **campione colorato con il solo anti-HbF R-PE (S3)** per regolare la compensazione di R-PE da FL1. I segnali positivi FL2 (*globuli rossi fetali*) verranno rappresentati nel quadrante superiore sinistro del dot-plot FL1 rispetto a FL2 (vedere il citogramma 5).



Citogramma 4

Citogramma 5

6. Infine, deve essere analizzato il **campione preparato con l'aggiunta del 5% di sangue (S4)** per verificare che siano state acquisite le corrette impostazioni del citometro. Per valutare il campione, posizionare l'asse orizzontale del quadrante immediatamente al di sotto della popolazione positiva HbF (vedere il citogramma 6) e l'asse verticale immediatamente a sinistra della popolazione positiva CA ma negativa HbF. I globuli rossi fetali sono collocati nel quadrante superiore sinistro del dot-plot, mentre le *cellule F interferenti (materne)* sono collocate nell'angolo destro inferiore insieme al resto degli eritrociti materni.



Citogramma 6

7. L'impostazione è stata completata ed è possibile procedere con l'analisi dei campioni dei pazienti. Quando il campione di controllo positivo, come indicato nella sezione dei campioni di controllo, non mostra alcuna colorazione delle cellule fetali per HbF (canale PE), l'analisi non è valida e deve essere eseguita nuovamente.

Risultati

I risultati della valutazione dei campioni di sangue dei pazienti sono quantitativi e costituiscono una fonte affidabile per definire la concentrazione di Globuli Rossi fetali nella circolazione sanguigna della madre. I globuli rossi fetali vengono riconosciuti per la loro chiara espressione di HbF combinata con un'espressione di CA più debole. Si differenziano così dai Globuli Rossi materni che non presentano alcun segnale HbF, ma una chiara espressione di CA, e dalle cellule F materne, caratterizzate da una bassa espressione di HbF ed una chiara espressione di CA. Dopo la trentaduesima settimana circa di gestazione l'espressione di CA diventerà più forte. Alla trentottesima settimana di gestazione e nelle settimane successive le cellule fetali potranno già presentare lo stesso livello di CA delle cellule materne.

I risultati tipici ottenuti con il kit *Fetal Cell Count™* sono presentati ai paragrafi **Impostazione degli strumenti** e **Caratteristiche di performance**. La precisione del conteggio di Globuli Rossi fetali è stata valutata su popolazioni miste di Globuli Rossi di sangue adulto e di cordone ombelicale. I citogrammi dimostrano in maniera evidente l'utilità di un secondo marker delle emazie, la CA, per la discriminazione precisa tra diverse popolazioni di Globuli Rossi in sangue materno. Senza la CA come marcatore, la discriminazione tra Globuli Rossi fetali e concentrazioni variabili di cellule F materne risulta problematica.

Inoltre, i risultati ottenuti e la percentuale di Globuli Rossi fetali possono essere usati per calcolare il volume totale di Globuli Rossi fetali nella circolazione sanguigna materna.

Controllo della qualità

Tutti i reagenti del kit Fetal Cell Count™, nonché la linearità e precisione del conteggio delle emazie fetali, sono stati testati su diverse popolazioni miste di GLOBULI ROSSI di sangue adulto e di cordone ombelicale. [17,18]

Limiti della procedura

- La raccolta dei campioni sarà eseguita da personale con esperienza nelle tecniche asettiche.
- Il kit Fetal Cell Count™ è inteso per il rilevamento tramite citometria a flusso e *non* per l'uso con la microscopia a immunofluorescenza.
- L'efficacia del kit Fetal Cell Count™ con campioni non composti da Globuli Rossi umani non è stata definita.
- Il kit Fetal Cell Count™ è destinato all'uso *diagnostico in vitro* nei paesi che appartengono alla Comunità Europea. In tutti gli altri paesi sarà classificato "Ad esclusivo uso di ricerca".
- L'accuratezza dei risultati con il citometro a flusso dipende dal corretto allineamento e calibratura del laser, nonché dalla corretta impostazione del gate.
- Lisi degli eritrociti e un calo del contenuto di HbF e CA non può essere escluso se le cellule sono conservate a temperatura ambiente per più di 72 ore (3 giorni). Pertanto, la preparazione delle cellule e l'incubazione sarà eseguita sempre entro 3 giorni dal prelievo del sangue.

Caratteristiche di performance

Specificità di legante di anticorpi – Risultati di studi interni hanno concluso che l'anticorpo diretto contro l'HbF (emoglobina fetale) riconosce solo la catena γ dell'emoglobina F, mentre il secondo anticorpo (policlonale) è specifico per l'antigene CA (anidrasi carbonica).

Correlazione con la versione migliorata del kit Fetal Cell Count™ (IQP-363)

La presente versione è la versione migliorata del kit Fetal Cell Count basato sulla colorazione diretta dei due marker usati (IQP-379). Diversi studi dimostrano una performance identica delle due versioni. Il coefficiente di correlazione (r^2) tra le due versioni è $> 0,99$.

Linearità – La misurazione delle miscele artificiali per il range di concentrazione (teorico) 0,02 – 5,0% (v/v) mostra un'elevata correlazione ($r = 0,999$), se vengono misurate 100.000 cellule. Detta correlazione aumenta se le analisi comprendono un maggior numero di cellule.

Specificità – I campioni testati di donatori di sangue di controllo non mostrato colorazione nell'area in alto a sinistra (UL). Questi dati dimostrano che non c'è alcuna interferenza nell'area UL che possa provocare un conteggio errato delle cellule fetali.

Limiti di rilevamento – Il limite di rilevamento del test è basato sulla misurazione di miscele artificiali e definito come 0,014% se vengono valutate 100.000 cellule. La precisione aumenta con l'aumentare del numero di eventi.

Valutazione clinica – Sono stati testati complessivamente 737 campioni nel corso di due diversi studi clinici. In questa sede è riprodotta solo una parte degli studi. Le pubblicazioni contenenti tutti i dati possono essere richieste a marketing@iqproducts.nl

- Nel corso della valutazione clinica, il kit Fetal Cell Count™ (IQP-379) migliorato è stato confrontato con la precedente versione (IQP-370) basata sulla colorazione indiretta dei marker. La correlazione tra le due versioni è risultata $r^2 > 0,995$.

- Una valutazione clinica è stata eseguita per studiare la performance del kit Fetal Cell Count™ (IQP-370) in confronto al test solitamente usato di Kleihauer-Betke. In detto studio sono stati esaminati 130 campioni di pazienti.

| | | Fetal Cell Count™ | | |
|-----------------|-------|-------------------|-----|-------|
| | | + | - | Total |
| Kleihauer-Betke | + | 17 | 11 | 28 |
| | - | 0 | 102 | 102 |
| | Total | 17 | 113 | 130 |

- Nel 13,1% dei casi (17/130) è stata individuata una trasfusione feto-materna con entrambi i metodi.
- Su un totale di 130 pazienti, 28 (28/130 – 21,50%) sono risultati presentare cellule fetali con il test Kleihauer-Betke; di questi, solo 17 pazienti (17/28 – 61%) avevano vere cellule fetali secondo il kit Fetal Cell Count™ (range 0,17 – 11,2%). Gli altri 11 pazienti positivi sottoposti al test (11/28 – 39%) avevano un pattern di test Kleihauer-Betke atipico, con una colorazione quasi impercettibile di alcune cellule.
- Dei 11 pazienti positivi di test Kleihauer-Betke e negativo di test Fetal Cell Count™ Kit 7 avevano un pattern di test Kleihauer-Betke atipico, con una colorazione quasi impercettibile di alcune cellule. Dei pazienti ha mostrato il tipico pattern della talassemia. Ai pazienti in questione era stata diagnosticata la talassemia.

Bibliografia















1. NEN EN ISO 15223-1 Medical devices - Symbols to be used with medical device labels, labeling and information to be supplied - Part 1: General requirements.
2. Sebring, E.S., Polesky, H.F. 1990. Fetomaternal hemorrhage: incidence, risk factors, time of occurrence, and clinical effects. *Transfusion* 30: 344-357.
3. Garratty, G., and Arndt, P.A. 1999. Applications of flow cytometry to red blood cell immunology. *Cytometry (Communications in Clinical Cytometry)* 38: 259-267.
4. Nance, S.J., Nelson, J.M., Arndt, P.A., et al. 1989. Quantitation of Feto-maternal hemorrhage by flow cytometry, a simple and accurate method. *Am.J.Clin.Pathol.* 91: 288-292.
5. Hadley, A.G. 1998. A comparison of in vitro tests for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn. *Vox Sang.* 74: 375-383.
6. Lee, D., Contreras, M., Robson, S.C., Rodeck, C.H., Whittle, M.J. 1999. Recommendations for the use of anti-D immunoglobulin for Rh prophylaxis. *Transf.Med.* 9: 93-97.
7. Kleihauer, P., Braun, H., and Betke, K. 1957. Demonstration of fetal hemoglobin in erythrocytes of a blood smear. *Klin.Wochenschr.* 35: 637-638.
8. Davis, B.H., Olsen, S., Bigelow, N.C., Chen, J.C. 1998. Detection of fetal red cells in fetomaternal hemorrhage using a fetal hemoglobin monoclonal antibody by flow cytometry. *Immunohematology* 38: 749-756.
9. Johnson, P.R., Tait, R.C., Austin, E.B., et al. 1995. Flow cytometry in diagnosis and management of large fetomaternal haemorrhage. *J.Clin.Pathol.* 48: 1005-1008.
10. Nelson, M., Popp, H., Horkey, K., Forsyth, C., Gibson, J. 1994. Development of a flow cytometric test for the detection of D-positive fetal cells after foetal-maternal hemorrhage and a survey of the prevalence in D-negative women. *Immunohematology* 10: 55-59.
11. Corsetti, J.P., Cox, C., Leary, J.F., Cox, M.T., Blumberg, N., Doherty, R.A. 1987. Comparison of quantitative acid-elution technique and flow cytometry for detecting fetomaternal hemorrhage. *Ann.Clin.Lab.Sci.* 17: 197-206.

12. Navenot, J.M., Merghoub, T., Ducrocq, R., Krishnamoorthy, R., Blanchard, D. 1998. A new method for quantitative determination of fetal hemoglobin-containing red blood cells by flow cytometry: application to sickle cell disease. *Cytometry* 32: 186-190.
13. Nelson, M., Zarkos, K., Popp, H., Gilson, J. 1998. A flow-cytometric equivalent of the Kleihauer test. *Vox Sang.* 75: 234-241.
14. Navenot, J.M., Blandin, A.M., Willem, C., Bernard, D., Muller, J.Y., Blanchard, D. 1995. In situ detection of foetal hemoglobin by flow cytometry: evaluation of a simple procedure for quantitating foetal erythrocytes in maternal peripheral blood. In: *International Society of Blood Transfusion – 5th Regional Congress; Venice 2-5 July*, abstract POS 309, p239.
15. Blanchard, D., Bernard, D., Loirat, M.J., Frioux, Y., Guimbretière, J., Guimbretière, L. 1992. Caractérisation d'anticorps monoclonaux murins dirigés contre les érythrocytes foetaux. *Rev.Fr.Transfus.Hémobiol.* 35: 239-254.
16. Brady, HJ.M., Edwards, M., Linch, D.C., 1990 Expression of the human carbonic anhydrase I gene is activated late in fetal erythroid development and regulated by stage-specific trans-acting factors. *British Journal of Haematology*, 76, 135-142.
17. Bernaud, J., Rigal, D., Porra, V., Follea, G., Blanchard, D. Fetal Cell Count™ - a commercial kit for quantification of fetal cells in maternal blood by flow cytometry. 5th Euroconference on Clinical Cell Analysis. Athens, Greece, 20-25 September 2005.
18. Porra, V., Bernaud, J., Gueret, P., Bricca, P., Rigal, D., Follea, G., and Blanchard, D. 2007 Identification and quantification of fetal red blood cells in maternal blood by a dual-color flow cytometric method: evaluation of the Fetal Cell Count kit. *Transfusion*, 47:7 , 1281 – 1289.
19. Leers MP, Pelikan HM, Salemans TH, Giordano PC, Scharnhorst V. Discriminating fetomaternal hemorrhage from maternal HbF-containing erythrocytes by dual-parameter flow cytometry. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006 Jul 24.

Garanzia

La sola garanzia offerta è di conformità a quantità e contenuti indicati sull'etichetta al momento della fornitura al cliente. Non vengono concessi altri tipi di garanzia, espressi o impliciti, che esulino dalla descrizione riportata sull'etichetta del prodotto. IQ Products bv non sarà responsabile di danni alla proprietà, ferite personali o perdite economiche causate dal prodotto.

Legenda dei simboli

| | |
|---|--|
|  | Consultare le Istruzioni per l'uso |
|  | Numero di catalogo |
|  | Sufficiente per |
|  | Dispositivo medico-diagnostico in vitro |
|  | Attenzione, consultare il documento allegato |
|  | Conservare al riparo dalla luce (solare) |
|  | Rischio biologico |
|  | Limiti di temperatura (°C) |
|  | Ad esclusivo uso di ricerca |
|  | Codice del lotto |
|  | Utilizzare entro aaaa-mm-gg |
|  | Fabbricante |
|  | Mandatario nella Comunità Europea |
|  | Conformité Européenne (Conformità Europea) |

Il prodotto è registrato "per uso diagnostico in vitro" nei paesi che appartengono alla Comunità Europea. In tutti gli altri paesi sarà classificato "ad esclusivo uso di ricerca".

IQ Products bv

Rozenburglaan 13a
 9727 DL Groningen, The Netherlands
 +31 (0)50 57 57 000
 +31 (0)50 57 57 002
 Technical marketing@iqproducts.nl
 Orders orders@iqproducts.nl
 www.iqproducts.nl

©2016 - IQ Products bv. Tutti i diritti riservati. Nessuna parte dei presenti documenti può essere riprodotta in qualsivoglia forma senza autorizzazione scritta.